VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

(Kapitel II des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens)

								
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts H 06291 WO			WEITERES VOR	GEHEN	siehe Formblatt PCT/IPEA/416			
Internationales Aktenzeichen PCT/EP2005/001543			Internationales Anmelo 16.02.2005	ledatum (TagMonatUahr)	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 19.03.2004			
ł	Internationale Patentklassifikation (IPC) oder nationale Klassifikation und IPC INV. C07K14/195							
	nelder NKEL KOMMAN	DITGESELLSCI	HAFT AUF AKTIEN	et al.				
1.	 Bei diesem Bericht handelt es sich um den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, der von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde nach Artikel 35 erstellt wurde und dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt wird. 							
2.	Dieser BERICH	Γ umfaßt insgesan	nt 5 Blätter einschließ	lich dieses Deckblatts.	•			
3.	Außerdem lieger	n dem Bericht ANI	AGEN bei; diese umf	assen				
	a. 🛛 (an den A	Anmelder und das	Internationale Büro ge	e <i>sandt)</i> insgesamt 7 Blä	tter; dabei handelt es sich um			
	zugru	unde liegen, und/o		igungen, denen die Behö	geändert wurden und diesem Bericht örde zugestimmt hat (siehe Regel			
	Grün	den nach Auffassı	ıng der Behörde eine	aus den in Feld Nr. 1, P Änderung enthalten, die h eingereichten Fassung	unkt 4 und im Zusatzfeld angegebenen über den Offenbarungsgehalt der g hinausgeht.			
	b. (nur an das Internationale Büro gesandt) insgesamt (bitte Art und Anzahl der/des elektronischen Datenträger(s) angeben), der/die ein Sequenzprotokoll und/oder die dazugehörigen Tabellen enthält/enthalten, nur in elektronischer Form, wie im Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll angegeben (siehe Abschnitt 802 der Verwaltungsvorschriften).							
4.	Dieser Bericht er	nthält Angaben zu	folgenden Punkten:					
	Feld Nr. I	Grundlage des B	erichts					
	☐ Feld Nr. II	Priorität		•				
Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit					Tätigkeit und gewerbliche			
	☐ Feld Nr. IV	MangeInde Einhe	eitlichkeit der Erfindun	g				
i.	Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Arikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung							
	☐ Feld Nr. VI	Bestimmte angef	ührte Unterlagen					
	Feld Nr. VII	_	el der internationalen	-				
	☐ Feld Nr. VIII	Bestimmte Beme	rkungen zur internatio	onalen Anmeldung				
Datu	Datum der Einreichung des Antrags			Datum der Fertigstellung	dieses Berichts			
08.0	9.2005			26.06.2006				
	Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde			Bevollmächtigter Bediensteter				
Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d			S enmu d	Stoyanov, B	Carrier of the Carrie			
Fax: +49 89 2399 - 4465			opina a	Tel. +49 89 2399-7726	The December of the Party of th			

IAP16 Rec'd PCT/PTO 19 SEP 2000

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

10/593425 Internationales Aktenzeichen PCT/EP2005/001543

_			·							· · · · ·	
	Feld	Nr. I	Grundlag	e des Beri	chts					-	
1.	Hins	sichtlich	der Sprac	he beruht c	ler Bescheid a	uf					
	\boxtimes	der int	ernationale	n Anmeldur	ng in der Sprac	he, in de	r sie einger	eicht wurde.			
		es sich	um die Sp	rache der Ü	ationalen Anmo Jbersetzung ha (nach Regeln	andelt, die	e für folgen	le Sprache , den Zweck e	bei der eingereicht	worden is	st:
		□ Ver	öffentlichur	ig der interr	nationalen Ann Prüfung (nach F	neldung (nach Regel				
2.	Ann	neldean	nt auf eine l	Aufforderun	r internationale ng nach Artikel d ihm nicht bei	14 hin vo	dung beruh <i>orgelegt wul</i>	t der Bericht rden, gelten	auf (Ersat im Rahmei	zblätter, a n dieses E	lie dem 3erichts als
	Bes	chreibu	ng, Seiten						÷		
	1-46			·	n der ursprüngli	ch eingere	ichten Fassi	ung			
	Ansı	orüche,	Nr.	•							
	1-47	·		•	eingegangen am	14.09.20	05 mit Schre	iben vom 06.	09.2005		
	Zoio	hnungo	n Blätter								
		_	n, Blätter					•			
	1/10-	10/10		i	n der ursprünglic	ch eingere	ichten Fassı	ung			
		einem :		otokoll und/	oder etwaigen	dazugeh	örigen Tabe	ellen - siehe	Zusatzfeld	betreffen	d das
3.		_		-	d folgende Un	terlagen f	ortgefallen:	:			
•			chreibung: prüche: Nr.	Seite							
			hnungen: E		Angaben):			•	•		
					okoll gehörend	le Tabelle	en <i>(genaue</i>	Angaben):		,	
1.	aufg Auffa	elistete	n Änderung der Behörd	en erstellt v	ksichtigung (vo worden, da die Offenbarungs	se aus de	en im Zusat	tzfeld angeg	ebenen Gr	ünden nad	ch
	. [⊐ Ans	chreibung: prüche: Nr. hnungen: E								
			uenzprotok aige zum Se		<i>Angaben)</i> : okoll gehörend	e Tabelle	n <i>(genaue</i>	Angaben):			
	* W	Wenn P Setzt"	Punkt 4 z ' versehe	utrifft, n werden	können ein	ige ode	er alle d	dieser Bla	ätter mi	t der Be	emerkung

Begründete Feststellung nach Artikel 35 (2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Feld Nr. V Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)

Ja:

Ansprüche 1-37, 39-42, 44-47

Nein: Ansprüche 38, 43

Erfinderische Tätigkeit (IS)

Ja:

Ansprüche 1-37, 39-42, 44-47

Nein: Ansprüche 38, 43

Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)

Ja:

Ansprüche: 1-47

Nein: Ansprüche: -

2. Unterlagen und Erklärungen (Regel 70.7):

siehe Beiblatt

IAP16 Rec'd PCT/PTO 19 SEP 2006

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

TO 1593425 PCT/EP2005/001543

Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll	
Eddaticia petroriaria ana andani-protessari	

Fortsetzung	von	Feld	Nr. I	I, F	Punkt	2:
--------------------	-----	------	-------	------	-------	----

-	ortsetzi	ing von reid Nr. I, Fulliki Z.					
1.	Hinsic und fü	insichtlich der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz, die in der internationalen Anmeldung offenbart wurde nd für die beanspruchte Erfindung erforderlich ist, ist der Bericht auf folgender Grundlage erstellt worden:					
	a. Art	des Materials					
	\boxtimes	Sequenzprotokoll					
		Tabelle(n) zum Sequenzprotokoll					
	b. For	n des Materials					
	\boxtimes	in Papierform					
	\boxtimes	in elektronischer Form					
	c. Zeit	punkt der Einreichung					
		in der eingereichten internationalen Anmeldung enthalten					
	\boxtimes	zusammen mit der internationalen Anmeldung in elektronischer Form eingereicht					
		bei der Behörde nachträglich für die Zwecke der Recherche und/oder Prüfung eingereicht					
		bei der Behörde als Änderung* eingegangen am					
2.	ei oc	urden mehr als eine Version oder Kopie eines Sequenzprotokolls und/oder einer dazugehörigen Tabelle ngereicht, so sind zusätzlich die erforderlichen Erklärungen, daß die Information in den nachgereichten ler zusätzlichen Kopien mit der Information in der Anmeldung in der eingereichten Fassung übereinstimmt www.nicht über sie hinausgeht, vorgelegt worden.					

- 3. Zusätzliche Bemerkungen:
- Wenn Feld Nr. I, Punkt 4 zutrifft, können das Protokoll und/oder die zugehörige(n) Tabelle(n, die Teil der Grundlage des Berichts sind, mit der Bemerkung "ersetzt" versehen werden.

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: WO 02/29113 A (NOVOZYMES BIOTECH, INC; NOVOZYMES A/S) 11. April 2002 (2002-04-11)
- D2: KUNST F ET AL: "THE COMPLETE GENOME SEQUENCE OF THE GRAM-POSITIVE BACTERIUM BACILLUS SUBTILIS" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, Bd. 390, 1997, Seiten 249-256, XP000919353 ISSN: 0028-0836

Zu Punkt V

- 1. Der Gegenstand der vorliegenden Ansprüche 1-37, 39-42, 44-47 kann als neu und erfinderisch gegenüber der zu Verfügung stehende Stand der Technik betrachtet werden.
- 2. Jedoch sind die vorliegende Ansprüche 38 und 43 nicht neu. Diese Ansprüche beziehen sich auf eine unbestimmte Nukleinsäure die nur als eine "Teilsequenz" von einer bestimmten "Teilsequenz" definiert ist. Solche Nukleinsäuren sind so **unklar definiert**, daß sie nicht neu sein können. Dem entsprechend erfüllen Ansprüche 38 und 43 nicht die Erfordernisse des Artikels 33(2)(3) PCT.
- 3. Ansprüche müssen für sich genommen bereits klar sein. Dies ist im vorliegenden Fall nicht gegeben:

Der Ausdruck "...homologen Genen/homologes Gen" in den Ansprüchen 14, 16, 21 und 23 führt zu Unklarheit, da nicht klar gestellt ist wie hoch und über welchen Bereich diese Homologie sein sollte. Dementsprechend erfüllen die Ansprüche 14, 16, 21 und 23 (und damit auch alle davon abhängigen Ansprüche) nicht die Erfordernisse des Artikels 6 PCT.

• Printed: 21:06:2006 CLMSRAPTE REC'T PCT/PTO 19 SEP 2005/015 4

Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2005/001543

10/593425

H 06291 PCT/EP 06.05.2005

Ersatzseiten 47

EPO-DG 1 14. 09. 2005

Patentansprüche



- 1. Faktor RecA mit einer Aminosäuresequenz, die zu der in SEQ ID NO. 2 angegebenen Aminosäuresequenz mindestens zu 96% identisch ist.
- Faktor nach Anspruch 1 mit einer Aminosäuresequenz, die zu der in SEQ ID NO. 2 angegebenen Aminosäuresequenz zunehmend bevorzugt mindestens zu 96,5%, 97%, 97,5%, 98%, 98,5%, 99%, 99,5% und ganz besonders bevorzugt zu 100% identisch ist.
- 3. Faktor RecA, codiert von einer Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 1 angegebenen Nukleotidsequenz mindestens zu 85% identisch ist.
- 4. Faktor nach Anspruch 3, codiert von einer Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 1 angegebenen Nukleotidsequenz zunehmend bevorzugt mindestens zu 87,5%, 90%, 92,5%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% und ganz besonders bevorzugt zu 100% identisch ist.
- 5. Für einen Faktor RecA codierende Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 1 angegebenen Nukleotidsequenz mindestens zu 85% identisch ist.
- Nukleinsäure nach Anspruch 5, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 1 angegebenen Nukleotidsequenz zunehmend bevorzugt mindestens zu 87,5%, 90%, 92,5%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% und ganz besonders bevorzugt zu 100% identisch ist.
- 7. Nukleinsäure nach Anspruch 5 oder 6, codierend für einen Faktor RecA nach einem der Ansprüche 1 bis 4.
- 8. Verwendung einer für einen Faktor RecA codierenden Nukleinsäure zur funktionellen Inaktivierung des Gens *recA* in einem grampositiven Bakterium, welches nicht *Bacillus megaterium* ist.

Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2005/001543

H 06291 PCT/EP 06.05.2005

- 9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei eine für ein nichtaktives Protein codierende Nukleinsäure mit einer Punktmutation eingesetzt wird.
- 10. Verwendung nach Anspruch 8, wobei eine Nukleinsäure mit einer Deletions- oder Insertionsmutation eingesetzt wird, vorzugsweise umfassend die jeweils mindestens 70 bis 150 Nukleinsäurepositionen umfassenden Randsequenzen des für das Protein codierenden Bereichs.
- 11 Verwendung nach Anspruch 8, wobei Nukleinsäuren mit insgesamt zwei Nukleinsäuren säureabschnitten eingesetzt werden, die jeweils mindestens 70 bis 150 Nukleinsäuren positionen umfassen und damit den für das Protein codierenden Bereich zumindest teilweise, vorzugsweise vollständig flankieren.
- 12. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 11, wobei es sich um eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7 und/oder um eine Nukleinsäure handelt, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 31 angegebenen Nukleotidsequenz in den Positionen 369 bis 1415 zu mindestens 1045, vorzugsweise mindestens 1046, ganz besonders bevorzugt 1047 dieser 1047 Positionen übereinstimmt, beziehungsweise um die zumindest teilweise nichtcodierenden flankierenden Bereiche zu diesen Nukleinsäuren.
- 13. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 12, wobei das grampositive Bakterium, vorzugsweise eines der Gattungen Clostridium oder Bacillus, natürlicherweise zur Sporulation befähigt ist und gleichzeitig mit recA ein Gen aus der Phase IV der Sporulation funktionell inaktiviert wird.
- 14. Verwendung nach Anspruch 13, wobei es sich bei dem inaktivierten Gen aus der Phase IV der Sporulation in der Nomenklatur von *B. subtilis* um eines der Gene *spolVA*, *spolVB*, *spolVCA*, *spolVCB*, *spolVFA*, *spolVFB* oder *yqfD* beziehungsweise um ein hierzu homologes Gen handelt, vorzugsweise im Fall von *B. subtilis* um das Gen *yqfD*, im Fall von *Bacillus licheniformis* um das Gen *spolV* und in jedem anderen Fall um ein hierzu homologes Gen.

- 15. Verwendung nach Anspruch 13 oder 14, wobei genau ein Gen aus der Phase IV der Sporulation funktionell inaktiviert wird.
- 16. Verwendung nach Anspruch 14 oder 15, wobei die funktionelle Inaktivierung der Gene spolVA, spolVB, spolVCA, spolVCB, spolVFA, spolVFB, yqfD oder spolV beziehungsweise den hierzu jeweils homologen Genen mithilfe der Sequenzen SEQ ID NO. 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, oder 17 oder Teilen davon erfolgt, vorzugsweise mithilfe von Teilen, die mindestens 70 bis 150 zusammenhängende Nukleinsäurepositionen umfassen, besonders bevorzugt mithilfe von zwei solchen Teilen, die einen dazwischenliegenden Teil des Gens umschließen.
- 17. Grampositives Bakterium, welches nicht *Bacillus megaterium* ist, bei dem das Gen *recA* funktionell inaktiviert ist.
- 18. Grampositives Bakterium nach Anspruch 17, wobei die funktionelle Inaktivierung über Punktmutagenese, teilweise Deletion oder Insertion oder vollständige Deletion des für das vollständige Protein codierenden Bereichs erfolgt ist.
- 19. Grampositives Bakterium nach Anspruch 17 oder 18, wobei die funktionelle Inaktivierung über eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7 und/oder über eine Nukleinsäure erfolgt ist, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 31 angegebenen Nukleotidsequenz in den Positionen 369 bis 1415 zu mindestens 1045, vorzugsweise mindestens 1046, ganz besonders bevorzugt 1047 dieser 1047 Positionen übereinstimmt, beziehungsweise über die zumindest teilweise nichtcodierenden flankierenden Bereiche zu diesen Nukleinsäuren.
- 20. Grampositives Bakterium nach einem der Ansprüche 17 bis 19, vorzugsweise eines der Gattungen Clostridium oder Bacillus, das natürlicherweise zur Sporulation befähigt ist und bei dem gleichzeitig mit recA ein Gen aus der Phase IV der Sporulation funktionell inaktiviert ist.
- 21. Grampositives Bakterium nach Anspruch 20, wobei es sich bei dem inaktivierten Gen aus der Phase IV der Sporulation in der Nomenklatur von *B. subtilis* um eines der Gene *spolVA*, *spolVB*, *spolVCA*, *spolVCB*, *spolVFA*, *spolVFB* oder *yqfD*

Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2005/001543

PCT/EP05/015 43 H 06291 PCT/EP 06.05.2005

Ersatzseiten 50

beziehungsweise um ein hierzu homologes Gen handelt, vorzugsweise im Fall von *B. subtilis* um das Gen *yqfD*, im Fall von *Bacillus licheniformis* um das Gen *spolV* und in jedem anderen Fall um ein hierzu homologes Gen.

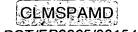
- 22. Grampositives Bakterium nach Anspruch 20 oder 21, wobei genau ein Gen aus der Phase IV der Sporulation funktionell inaktiviert ist.
- 23. Grampositives Bakterium nach Anspruch 21 oder 22, wobei die funktionelle Inaktivierung der Gene spolVA, spolVB, spolVCA, spolVCB, spolVFA, spolVFB, yqfD oder spolV beziehungsweise den hierzu jeweils homologen Genen mithilfe der Sequenzen SEQ ID NO. 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, oder 17 oder Teilen davon erfolgt ist, vorzugsweise mithilfe von Teilen, die mindestens 70 bis 150 zusammenhängende Nukleinsäurepositionen umfassen, besonders bevorzugt mithilfe von zwei solchen Teilen, die einen dazwischenliegenden Teil des Gens umschließen.
- 24. Grampositives Bakterium nach einem der Ansprüche 17 bis 23, wobei es sich um eines der Gattungen Clostridium oder Bacillus handelt, insbesondere um eines der Spezies Bacillus subtilis, B. licheniformis, B. amyloliquefaciens, B. stearothermophilus, B. globigii, B. clausii oder B. lentus, und ganz besonders um einen Stamm von B. licheniformis.
- 25. Verfahren zur Fermentation eines grampositiven Bakteriums nach einem der Ansprüche 17 bis 24.
- 26. Verfahren nach Anspruch 25 zur Herstellung eines Wertstoffs, insbesondere einer niedermolekularen Verbindung oder eines Proteins.
- 27. Verfahren nach Anspruch 26, wobei es sich bei der niedermolekularen Verbindung um einen Naturstoff, einen Nahrungsmittelergänzungsstoff oder um eine pharmazeutisch relevante Verbindung handelt.

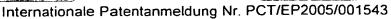
H 06291 PCT/EP 06.05.2005

- 28. Verfahren nach Anspruch 26, wobei es sich bei dem Protein um ein Enzym handelt. insbesondere eines aus der Gruppe der α-Amylasen, Proteasen, Cellulasen, Lipasen, Oxidoreduktasen, Peroxidasen, Laccasen, Oxidasen und Hemicellulasen.
- 29. Verwendung des Faktors RecA nach einem der Ansprüche 1 bis 4 und/oder eines RecA, welches mit der in SEQ ID NO. 32 angegebenen Aminosäuresequenz in mindestens 347, vorzugsweise 348 der dort gezeigten 348 Aminosäurepositionen übereinstimmt, in einem molekularbiologischen Reaktionsansatz.
- 30. Verwendung nach Anspruch 29 zum Stabilisieren einzelsträngiger DNA, insbesondere bei einer DNA-Polymerisation, bei in vitro erfolgenden Rekombinationsvorgängen, oder zum Überführen doppelsträngiger DNA in einzelsträngige DNA oder umgekehrt.
- 31. Vektor, enthaltend eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7.
- 32. Vektor nach Anspruch 31, wobei es sich um einen Expressionsvektor handelt.
- 33. Verfahren zur Herstellung eines Faktors RecA nach einem der Ansprüche 1 bis 4.
- 34 Verfahren nach Anspruch 33, unter Einsatz einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7, vorzugsweise eines Expressionsvektors nach Ansprüch 32, weiter bevorzugt durch Fermentation eines diese Nukleinsäure beziehungsweise diesen Expressionsvektor enthaltenden Wirts.
- 35. Verwendung der für einen Faktor RecA nach einem der Ansprüche 1 bis 4 codierenden Nukleinsäure zur Expression dieses Faktors.
- 36. Verwendung nach Anspruch 35, um diesen Faktor selbst herzustellen, insbesondere in einem Verfahren nach Anspruch 34, oder um molekularbiologische Aktivitäten der betreffenden Zellen zu modulieren, insbesondere bei in vivo erfolgenden Rekombinationsvorgängen.

- 37. Verwendung der für einen Faktor RecA codierenden Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7 und/oder einer für einen Faktor RecA codierenden Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 31 angegebenen Nukleotidsequenz in den Positionen 369 bis 1415 zu mindestens 1045, vorzugsweise mindestens 1046, besonders bevorzugt 1047 dieser 1047 Positionen übereinstimmt, zur Inaktivierung dieses Faktors oder des Gens *recA* in einem *In-vitro-*Ansatz, insbesondere über Wechselwirkung mit einer zugehörigen Nukleinsäure.
- 38 Eine für eine Teilsequenz von *recA* codierende oder für eine mit *recA* in vivo benachbarte Teilsequenz, vorzugsweise weniger als 1.000 bp, besonders bevorzugt weniger als 500 bp entfernt liegende Nukleinsäure gemäß einer der SEQ ID NO. 25 bis 29.
- 39. Verwendung mindestens einer, vorzugsweise von mindestens zwei einander entgegenorientierten Nukleinsäuren gemäß SEQ ID NO. 25 bis 30 zur Amplifizierung eines *in vivo* davon umschlossenen DNA-Bereichs.
- 40. Verwendung nach Anspruch 39 zur Amplifizierung eines recA-Gens.
- 41. Verwendung nach Anspruch 39 oder 40 im Rahmen eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 8 bis 16.
- 42. Verwendung nach einem der Ansprüche 39 bis 41 zur Erzeugung eines grampositiven Bakteriums nach einem der Ansprüche 17 bis 24.
- 43. Eine für eine Teilsequenz von *spolV* codierende oder für eine mit *spolV* in vivo benachbarte Teilsequenz, vorzugsweise weniger als 1.000 bp, besonders bevorzugt weniger als 500 bp entfernt liegende Nukleinsäure gemäß einer der SEQ ID NO. 22 bis 24.
- 44. Verwendung mindestens einer, vorzugsweise von mindestens zwei einander entgegenorientierten Nukleinsäuren gemäß SEQ ID NO. 25 bis 30 zur Amplifizierung eines *in vivo* davon umschlossenen DNA-Bereichs.









- 45. Verwendung nach Anspruch 44 zur Amplifizierung eines spolV-Gens.
- 46. Verwendung nach Anspruch 44 oder 45 im Rahmen eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 13 bis 16.
- 47. Verwendung nach einem der Ansprüche 44 bis 46 zur Erzeugung eines grampositiven Bakteriums nach einem der Ansprüche 20 bis 24.